

MagPure Total RNA Micro Kit

磁珠法微量 RNA 试剂盒

本产品为微量培养细胞、微量组织、穿刺液、血液等生物样品的总 RNA 提取提供了一个简单快速的解决方案。产品基于高结合力的纳米磁性粒子的纯化方式。样品在消化液的作用下裂解消化，RNA/DNA 释放到裂解液中。加入结合液和磁性粒子吸附 RNA/DNA，而蛋白质则不被吸附而去除。吸附了 DNA/RNA 的粒子经洗涤液洗涤去除蛋白质和其它杂质，再经含乙醇洗涤去除盐分，然后加入 DNase 消化去除 DNA，最后 RNA 被低盐缓冲液洗脱。洗脱的 RNA 可直接用于 RT-PCR、病毒检测等实验。

产 品 组 份：瓶装试剂

产品编号	R6621-00	R6621-01	R6621-02	R6621-03
纯化次数	24 次	48 次	96 次	480 次
DNase I	300 μ l	600 μ l	2 x 600 μ l	10 x 600 μ l
DNase Buffer C	15 ml	15 ml	30 ml	150 ml
MagPure Particles N	1.2 ml	1.2 ml	2.5 ml	11 ml
Buffer RTL	15 ml	30 ml	60 ml	300 ml
Buffer GW1 *	13 ml	22 ml	44 ml	220 ml
Buffer MW2*	10 ml	20 ml	50 ml	2 x 100 ml
RNase Free Water	10 ml	10 ml	20 ml	60 ml

保 存 条 件

本产品室温运输，长期保存时，把 MagPure Particles N 保存于 2-8℃，DNase I 保存于 -20℃，其余产品保存于室温，有效期 18 个月。

产 品 组 份： 预分装试剂

货 号		试剂组份与装量	R6621-TL-06	R6621-S-48
DNase I			2 × 600 µl	600 µl
Buffer RTL			60 ml	30 ml
DA-Tip			12 个	24 个
尖底板/ 试剂条	第 1/7 排孔：500µl 结合液 MCB		6 块	48 条
	第2/8排孔：500µl DNase Buffer C			
	20µl 磁珠MPN			
	第3/9排孔：500µl Buffer GW1			
	第4/10排孔：500µl Buffer MW2			
	第5/11排孔：500µl Buffer MW2			
		第6/12排孔：70µl RNase Free Water		

保 存 条 件

本产品室温运输，长期保存时，把 DNase I 保存于-20℃，其余产品保存于室温，有效期 18 个月。

准 备 事 项

- 在 Buffer GW1、Buffer MW2 中，加适量体积无水乙醇，于室温保存。
- (可选)提升裂解液的变性能力：使用前分装适量的 Buffer RTL，按 1ml Buffer RTL 加入 20µl β-巯基乙醇或 2M DTT，混合液室温可保存 1 周。β-巯基乙醇/DTT 能打断 RNase 分子间的二硫键，高效灭活 RNASE，提高 RNA 质量。由于 β-巯基乙醇/DTT 的毒性，多数情况下，不添加也可以得到完整的 RNA。

第一部分: 样品的裂解和消化

- **组织:** 取不超过 10mg 组织、穿刺组织至 1.5ml 离心管中, 加入 450 μ l 消化液 RTL, 用匀浆器进行匀浆。室温下, 14,000 $\times$ g 离心 3 分钟。
- **悬浮细胞(不超过 2×10^6):** 取适量培养液至离心管中, 2000 $\times$ g 离心 5 分钟收集细胞, 彻底去除培养基。涡旋或弹打松散细胞, 加入 450 μ l 消化液 RTL, 用移液枪吸打数次, 消化液比较粘稠时, 用 1ml 注射器吸打 3-5 次打断基因组, 降低粘度。
- **贴壁细胞(不超过 2×10^6):** 彻底吸去培养基, 加入 450 μ l 消化液 RTL, 用移液枪吸打数次让细胞脱落, 转移消化液至 1.5ml 离心管中。消化液比较粘稠时, 用 1ml 注射器吸打 3-5 次打断基因组, 降低粘度。
- **全血:** 取 0.5~1ml 新鲜血液, 用淋巴细胞分离液或红细胞消化液分离出淋巴细胞, 吸弃溶液后, 余~30 μ l 残液, 涡旋打散淋巴细胞, 加入 400 μ l 消化液 RTL, 用移液枪反复吸打数次, 消化液比较粘稠时, 用 1ml 注射器吸打 3-5 次打断基因组, 降低粘度。
- **骨髓:** 取 100 μ l 骨髓, 加入 400 μ l 消化液 RTL, 用移液枪反复吸打数次, 若消化液粘稠, 再用 1ml 注射器吸打 3-5 次打断基因组, 降低粘度。
- **穿刺液:** 取不超过 50 μ l 体液或穿刺液至 1.5ml 离心管中, 加入 400 μ l 消化液 RTL 至样品中, 用移液枪吸打数次。

第二部分: 单管操作

1. 在 1.5ml 离心管中, 加入 350 μ l 无水乙醇和 20 μ l MagPure Particles N。
2. 加入 400~450 μ l 匀浆液, 颠倒混匀 15-20 次, 室温放置 5 分钟, 其间颠倒混匀数次。转移至磁力架上吸附 2 分钟, 倒弃或吸弃溶液。
3. 加入 500 μ l Buffer GW1, 涡旋 15 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。短暂离心收集管壁上的液滴, 吸弃所有溶液, 空气干燥 2 分钟。
4. 加入 500 μ l DNase Mixture (500 μ l DNase Buffer C+10 μ l DNase I)至样品中, 室温振荡 15 分钟消化去除 DNA。转移至磁力架上吸附 1 分钟, 倒弃或吸弃溶液。
5. 加入 500 μ l Buffer GW1, 涡旋 15 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。
6. 加入 500 μ l Buffer MW2, 涡旋 15 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。

7. 加入 500 μ l Buffer MW2，涡旋 15 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。
8. 短暂离心，收集管壁上的液滴，吸弃所有的溶液。室温干燥 5 分钟。
9. 加入 30~70 μ l RNase Free Water 至样品中，涡旋打散磁珠。室温静置 3 分钟。
10. 转移至磁力架上吸附 3 分钟，把 RNA 转移至新的离心管中。

第三部分： 32/48 通道核酸提取仪操作

1. 瓶装试剂：按预分装试剂表格所示，按各种试剂分装至 96 孔板的对应孔中。
预分装试剂：颠倒 96 孔板让磁珠充分悬浮，正放 1 分钟后，去除封口袋和封口膜。
2. 在第 1/7 排孔中，加入 400~450 μ l 裂解液（见第一部分）。
3. 在第 3/9 排孔中，加入 10 μ l DNase I 至液体中，不要粘附的孔壁上方。
4. 把磁力外套插到仪器中，把 96 孔板放到仪器中(A1 孔按左内角放置)。编写程序，并启动对应程序。

序号	步骤名称	孔位	容积	混合时间		等待		磁吸时间			吸磁	加热	
				时间	速度	时间	位置	升降	液面	底部		板位	温度
1	吸磁	4	500	20	8	0	0	60	0	0	自动	/	/
2	结合	1	800	360	8	0	0	90	30	30	自动	/	/
3	干燥	2	500	90	8	2 min		60	0	0	自动	/	/
4	酶解	2	500	900	8	0	0	60	0	0	自动	/	/
5	清洗1	3	500	90	8	0	0	60	0	0	自动	/	/
6	清洗2	4	500	60	8	0	0	60	0	0	自动	/	/
7	清洗3	5	500	60	8	0	0	60	0	0	自动	/	/
8	干燥	6	100	0	8	5 min		0	0	0	自动	/	/
9	洗脱	6	100	240	8	0	0	60	0	50	自动	/	/
10	弃磁	5	500	30	9	0	0	0	0	0	自动	/	/

5. 继续执行程序，约 50 分钟提取结束，取出 96 孔板和磁力外套。
6. 把 RNA 转移至 1.5ml 离心管中，把产物保存于-20~8℃。